



# AUSLEGESCHRIFT

## 1237 731

Deutsche Kl.: 30 i - 3

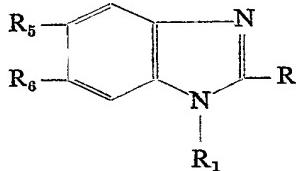
Nummer: 1 237 731  
 Aktenzeichen: M 61113 IV a/30 i  
Anmeldetag: 23. Mai 1964  
Auslegetag: 30. März 1967

**1**

Es sind zwar bei den bisherigen Bemühungen zur Kontrolle von Fungi viele Antifungusmittel beschrieben und verwendet worden, doch gibt es keine vollständig zufriedenstellenden, und die fortgesetzten Verluste, die sich aus einem Fungusangriff ergeben, machen das Problem der Kontrolle zu einem ersten und andauernden Problem. Die Anzahl der bei der Bekämpfung von Fungus-Wachstum praktisch brauchbaren Fungicide ist bisher klein, und es haben sich nur in einigen wenigen Fällen synthetische organische Chemikalien als anwendbar erwiesen.

Der Ausdruck »fungicid«, wie er hier verwendet wird, soll die Kontrolle von Fungi ganz allgemein umfassen, so daß er die Abtötung von Fungi sowie die Inhibierung des Wachstums von Fungi einschließt.

Gegenstand der Erfindung ist nun ein Mittel zur Bekämpfung von Fungus-Wachstum, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einem 2-R-Benzimidazol der Formel



in der R einen Thiazolyl-, Isothiazolyl- oder Thiadiazolylrest, R<sub>1</sub> ein Wasserstoffatom oder einen Acyl-, niedrig-Alkyl-, Alkenyl-, Aralkyl- oder Aralkenylrest und R<sub>5</sub> und R<sub>6</sub> Wasserstoff- oder Halogenatome oder niedrig-Alkyl-, Phenyl-, Halogenphenyl-, niedrig-Alkoxyphenyl-, Phenoxy- oder niedrig-Alkoxygruppen bedeuten, wobei, falls einer der Reste R<sub>5</sub> und R<sub>6</sub> einen anderen Rest als ein Halogenatom bedeutet, 35 zumindest einer der Reste R<sub>5</sub> und R<sub>6</sub> Wasserstoff ist, oder Säureadditionssalzen hiervon.

Eine bevorzugt angewendete Verbindung ist das 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol. Die heterocyclische Gruppe in der 2-Stellung kann weiterversubstituiert sein, 40 beispielsweise durch eine niedrig-Alkylgruppe.

Als weitere Beispiele für die Verbindungen innerhalb des Bereichs der vorliegenden Erfindung, die als Antifungusmittel besonders wirksam sind, können die folgenden erwähnt werden:

2-[3'-(1',2',5'-Thiazolyl)]-benzimidazol,  
 2-(4'-Thiazolyl)-5-methoxybenzimidazol,  
 2-(4'-Thiazolyl)-5-phenoxybenzimidazol-hydrochlorid,  
 2-(2'-Methyl-4'-thiazolyl)-benzimidazol,  
 2-[4'-(1',2',3'-Thiadiazolyl)]-benzimidazol,

## Mittel zur Bekämpfung von Fungus-Wachstum

## Anmelder:

Merck & Co., Incorporated, Rahway, N. J.  
 (V. St. A.)

## Vertreter:

Dr.-Ing. W. Abitz und Dr. D. Morf,  
 Patentanwälte, München 27, Pienzenauer Str. 28

## Als Erfinder benannt:

Joseph Richard Wagner, Moraga;  
 Herbert Havenstrite Royse,  
 Oakdale, Calif. (V. St. A.);  
 Thomas William Humphreys, London, Ontario  
 (Kanada)

## Beanspruchte Priorität:

V. St. v. Amerika vom 23. Mai 1963 (282 551),  
 vom 12. Mai 1964 (366 883) --

**2**

1-Acetyl-2-(4'-thiazolyl)-5-phenylbenzimidazol,  
 2-(4'-Isothiazolyl)-benzimidazol,  
 2-(4'-Thiazolyl)-6-fluorbenzimidazol,  
 2-(4'-Thiazolyl)-5-aminobenzimidazol,  
 2-(2'-Thiazolyl)-5-(1'-imidazolyl)-benzimidazol,  
 2-(4'-Isothiazolyl)-5-chlorbenzimidazol,  
 2-(4'-Thiazolyl)-5-phenylbenzimidazol,  
 2-[4'-(1',2',3'-Thiazolyl)]-5-(4'-tolyl)-benzimidazol,  
 1-Acetyl-2-(2'-thiazolyl)-5-phenylbenzimidazol,  
 1-Methyl-2-(2'-isothiazolyl)-5-(2'-methoxyphenyl)-benzimidazol,  
 2-(4'-Isothiazolyl)-5-furylbenzimidazol,  
 2-(4'-Thiazolyl)-5-(4'-fluorophenyl)-benzimidazol-hydrochlorid,  
 2-(4'-Thiazolyl)-5-brombenzimidazol,  
 2-(4'-Thiazolyl)-5-chlorbenzimidazol,  
 2-(2'-Thiazolyl)-5-methoxybenzimidazol,  
 2-(4'-Thiazolyl)-5-(2'-fluorophenyl)-benzimidazol-hydrochlorid,  
 2-[3'-(1',2',5'-Thiazolyl)]-5-methylthio-benzimidazol,

2-(4'-Thiazolyl)-5,6-difluorbenzimidazol,  
 1-Benzoyl-2-(4'-thiazolyl)-benzimidazol,  
 2-(2'-Thiazolyl)-5-(2'-pyrryl)-benzimidazol,  
 1-Methyl-2-(4'-isothiazolyl)-benzimidazol-hydrochlorid,  
 2-(4'-Thiazolyl)-5-phenoxy-benzimidazol,  
 2-[3'-(1',2',5'-Thiazolyl)]-5-methoxy-benzimidazol,  
 1-Äthyl-2-(4'-thiazolyl)-5-(2'-thiazolyl)-benzimidazol,  
 1-Acetyl-2-[3'-(1',2',5'-thiadiazolyl)]-5-(2'-furyl)-benzimidazol,  
 2-(4'-Thiazolyl)-4-fluorbenzimidazol-hydrochlorid,  
 2-(2'-Thiazolyl)-benzimidazol und  
 1-Acetyl-2-(4'-thiazolyl)-benzimidazol.

Sehr wirksam sind auch die Komplexverbindungen von Kupfer, Blei, Zink, Eisen, Kobalt, Quecksilber, Mangan und Nickel mit 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol.

Die in den erfindungsgemäßen Mitteln enthaltenen 2-substituierten Benzimidazole sind bei der Kontrolle des Wachstums von Aspergillus-Species, beispielsweise A. niger, A. flavus, A. fumigatus, A. oryzae, A. luchensis, A. versicolor, A. sydowi, A. nidulans, A. flaucus; und A. terreus, Penicillium-Species, wie beispielsweise P. notatum, P. roqueforti, P. chrysogenum, P. oxalicum, P. spinulosum, P. martensii, P. citrinum, P. digitatum, P. expansum, P. italicum, P. cyclopium und P. funiculosum, Neurospora-Species, wie beispielsweise N. sitophila, Phoma-Species, wie beispielsweise P. terrestrius, Rhizopus-Species, Alternaria-Species, wie beispielsweise A. solani, Chaetomium-Species, wie beispielsweise C. globosum, Chaetomycum-Species, wie beispielsweise C. clivaceum und Monilia-Species, wie beispielsweise M. sitophila und M. nigra, wirksam. Die obigen Fungi können sich auf frischen, konservierten oder eingefrorenen Nahrungsmitteln, wie beispielsweise Käse, Getreide, Körnern, Fleisch, Fisch, Geflügel, Fetten und Ölen, Früchten, Gemüsen, Backwaren, Sirupe, Konfekt und Konfitüren u. dgl., befinden, oder sie können auf kosmetischen Mitteln, Leder, elektrischen Isolierungen, Textilien und zahlreichen anderen Materialien, die ihr Wachstum ermöglichen, gefunden werden.

Die Mittel gemäß der Erfindung können bei der Behandlung von Pflanzen, Böden, Früchten, Samen, Pelzen, Holz u. dgl. verwendet werden. Die fungicide Wirksamkeit der Verbindungen wurde bei Bodenfungi, wie beispielsweise Rhizoctonia solani, Fusarium solani und Pythium ultimum, Pflanzenfungi, beispielsweise Erysiphe polygoni und Alternaria solani, sowie bei Saprophyten, von denen bekannt ist, daß sie Holz, Holzstoff, Bauholz und Holzaufbereitungsmaterialien angreifen, wie beispielsweise Lenzites trabea und Ceratocystis pilifera, und dem Fungus Pullularia pullulans, der Farben angreift, nachgewiesen.

Die in den erfindungsgemäßen Mitteln enthaltenen 2-R-Benzimidazole besitzen, wie festgestellt wurde, auch Wirksamkeit gegen pathogene Fungi, wie beispielsweise Trichophyton-Species, z. B. T. mentagrophytes, T. rubrum und T. gypseum, Microsporum-Species, z. B. M. audouini und M. gypseum, Cryptococcus-Species, z. B. C. neoformans, Hormodendrum-Species, z. B. H. pedrosoi, und Geotrichum-Species.

Es sei bemerkt, daß die Verbindungen in verschiedenen Zubereitungen, in fester Form, einschließlich feinzerteilten Pulvern und gekörnten Materialien, sowie als Flüssigkeiten, wie beispielsweise Lösungen, Emulsionen, Suspensionen, Konzentratoren, emulgierbaren Konzentratoren, Aufschlämmungen u. dgl., je nach der beabsichtigten Anwendung und den gewünschten Zubereitungsmedien, verwendet werden können.

Die erfindungsgemäßen Mittel können feinzerteilte trockene oder flüssige Verdünnungsmittel, Streckmittel, Füllstoffe und Konditionermittel, einschließlich verschiedener Tone, Diatomeenerde, Talkum u. dgl., oder Wasser und verschiedene organische Flüssigkeiten, wie niedrige Alkanole, z. B. Äthanol und Isopropanol, oder Kerosin, Benzol, Toluol und andere Erdöldestillatfraktionen oder Gemische hiervon enthalten.

Es sei bemerkt, daß die 2-substituierten Benzimidazole gemäß der Erfindung in Kombination untereinander sowie mit anderen fungicid wirksamen Materialien verwendet werden können. So kann beispielsweise ein Gemisch von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol und Sorbinsäure oder deren Salzen, Propionsäure oder deren Salzen, Mycostatin, Natriumdiacetat, Trichomycin, Amphotericin, Griseofulvin, Undecylensäure, Chlorchinadol, 5,7 - Dichlor-8 - hydroxychinolin, Natrium-o-phenylphenolat, o-Phenylphenol, Biphenyl, chlorierten Phenolen, Natriumbenzoat, Methylacetopyronen oder deren Salzen oder Estern von p-Hydroxybenzoësäure, wie dem Methyl- und Propylester verwendet werden, um fungicide Wirkung bei Verwendung in geeigneten Konzentrationen zu ergeben. Es ist außerdem klar ersichtlich, daß die gemäß der obigen Formel definierten Verbindungen in Verbindung mit wirksamen antibakteriellen Materialien in geeigneten Fällen verwendet werden können, so daß die Wirkung von jeder der Materialien bei einer solchen Situation so kombiniert wird, daß sie besonders wertvoll ist, beispielsweise bei Anwendungen, bei welchen das Vorhandensein von Bakterien unerwünschte Ergebnisse neben der nachteiligen Wirkung der Fungi hervorruft. Demzufolge ist eine Kombination von Antifungus- und Antibakterienmitteln bei der Herstellung von keimtötenden Seifen, bei der Herstellung von Kosmetika und in Nahrungsmitteln, wie beispielsweise Bier, Käse oder Fleisch, sowie für Anwendungen für Leder wertvoll.

Es wurde gefunden, daß das Wachstum verschiedener Fungi, die im Boden vorkommen, durch Zugabe von kleinen Mengen der beschriebenen Benzimidazol-verbindungen zu dem Boden beschränkt oder abgebrochen wird. Der Ausdruck Boden, wie er hier verwendet wird, soll alle Medien umfassen, die das Wachstum von Pflanzen ermöglichen, und kann Humus, Sand, Mist oder Dünger, Kompost, künstlich erzeugte Pflanzenwachstumslösungen u. dgl. umfassen.

Es wurde auch gefunden, daß die erfindungsgemäßen Fungicide wirksam gegen Funguserkrankungen von Pflanzen sind und wirksam entweder durch direkten Kontakt mit dem Blatt- oder Laubwerk oder systematisch durch Einführung durch die Wurzeln verwendet werden können.

Die in den erfindungsgemäßen Mitteln enthaltenen Verbindungen haben auch Wirksamkeit gegen Bakterien und Hefen und können bei geeigneten Konzentrationsspiegeln wirksam zur Inhibition oder Ver-

hütung des Wachstums dieser Organismen verwendet werden. Es ist ersichtlich, daß die in den erfundungsgemäßen Mitteln enthaltenen Benzimidazole in ihrer Wirksamkeit gegen einen besonderen Organismus bei einer besonderen Konzentration schwanken können. Es sind zwar alle diese Verbindungen wirksame Fungicide und Baktericide, doch sind gewisse der Verbindungen wirksamer als andere gegen beispielsweise Hefe, Schimmelpilze oder Bakterien. Die durch die obige Formel beschriebenen Fungicide sind auf dem Gebiet der Nahrungsmittelkonservierung wertvoll, auf welchem Fungi bekanntlich Teige, Kuchen, Brot, Backwerk, Fleisch, Käse, Früchte, Gemüse, Getreide, Marmelade und Gelees, Laken, Fisch, Geflügel, Fette und Öle, Säfte, Honig, Sirup, Würzen, alkoholische Getränke, Konfekt und Konfitüren und andere Nahrungsprodukte angreifen.

Die vorliegenden Antifungusmittel haben sich als wirksam bei der Kontrolle des Fungus-Wachstums auf Käse erwiesen. Sie können auf die Verpackung von diesen angewendet oder direkt mit der eßbaren Substanz selbst vermischt werden. Die Anwendung der wirksamen Mittel auf die Verpackung kann nach jeder beliebigen bekannten Arbeitsweise, wie beispielsweise Eintauchen, Aufsprühen oder anderweitige Aufbringung des Fungicids, erfolgen. Alle Arten von Käse, insbesondere Weich- und Schmelzkäse, amerikanischer Käse, Schweizerkäse, Quark, Münsterkäse, Gruyerekäse, Landkäse, Cheddarkäse, Farmerkäse, Parmesankäse, Ricottakäse, Mozzarellakäse u. dgl., können wirksam auf diese Weise geschützt werden.

Die in den erfundungsgemäßen Mitteln enthaltenen Fungicide sind zur Inhibition von Schimmelwachstum bei Früchten, wie Citrusfrüchten, wertvoll. Das wirksame Mittel kann zu jeder beliebigen Zeit vor dem Verbrauch und vorzugsweise nach der Ernte angewendet werden. Beispielsweise kann das Antifungusmittel während der anfänglichen Lagerung vor oder nach dem Transport oder während der endgültigen Lagerung vor dem Verbrauch angewendet werden. Die Benzimidazole können auf einer Reihe von Wegen in dieser Hinsicht verwendet werden und entweder direkt auf die Frucht in einer Emulsion, Lösung, Suspension u. dgl. aufgebracht werden oder auf den Fruchtbehälter oder die Fruchtverpackung angewendet werden. Geeignete Träger für die wirksamen Mittel sind Wachse oder andere bekannte Materialien.

Es wurde ferner gefunden, daß die durch die obige Formel beschriebenen Benzimidazole zu Brotteig vor dem Mischen und Backen zugegeben werden können und hierdurch ein Schutz des Endprodukts vor Schimmelverderb erzielt werden kann. Das wirksame

Mittel kann zu dem Vorteil oder irgendeinem der trockenen Bestandteile, wie beispielsweise dem Mehl, in Form einer konzentrierten Lösung, Suspension od. dgl. zugegeben werden. Ein gleichförmig gemischter Teig ist in allen Fällen zweckmäßig. Das wirksame Mittel kann auch zu dem Teig durch Auflösen im Fett zugegeben werden. Wenn beispielsweise 0,02 g 2-(2'-Thiazolyl)-benzimidazol in 30 g Backfett gelöst werden, so kann die erhaltene Lösung zu 1000 g Mehl zugegeben werden, um eine Konzentration an Benzimidazol von 20 Teilen je Million, bezogen auf Mehl, zu erhalten. Damit die Konzentration der wirksamen Verbindungen ausreichend ist, um ein Schimmelwachstum auf dem Brot tatsächlich zu verhindern, können Mengen von etwa 5 bis 1000 Teilen je Million, vorzugsweise etwa 30 bis 200 Teilen je Million, bezogen auf Mehl, verwendet werden. Die 2-substituierten Benzimidazole, wie vorzugsweise die 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazole, sind besonders bei der Konservierung von Brot in einer Weise wirksam, die der zur Zeit technisch mit Propionaten möglichen Konservierung ohne nachteilige Beeinflussung von Geschmack, Laibvolumen oder Geruch überlegen ist. Zusätzlich erfolgt häufig ein Anstieg des Laibvolumens, wenn die Verbindungen gemäß der Erfindung als Antifungusmittel verwendet werden.

Die Lebensdauer von Brot hängt weitgehend von der Fähigkeit, einem Verderb durch Schimmelbildung zu widerstehen, ab. Geeignete Mittel zur Verhütung des Verderbs durch Schimmel sollten gleichzeitig keine spezielle inhibierende Wirkung auf irgendeine der zum Aufgehen verwendeten Hefen aufweisen. Die zweckmäßigsten Mittel zum Schutz von Brot vor Verderb durch Schimmel sind im Prinzip diejenigen, die eine selektive Wirkung gegen Schimmelwachstum haben. Überraschenderweise besitzen die Benzimidazole der obigen Formel diese sehr erwünschten Eigenschaften.

Die durch die obige Formel beschriebenen Verbindungen können beispielsweise nach den Arbeitsweisen der USA.-Patentschriften 3 055 907 und 3 017 415 hergestellt werden.

Die wesentliche Überlegenheit der erfundungsgemäß verwendeten Verbindungen geht aus den folgenden Untersuchungsergebnissen hervor:

Die Untersuchungen wurden entweder nach dem im Beispiel 8 beschriebenen Verfahren oder nach dem im Beispiel 15 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Im erstenen Falle wird die wirksame Mindestkonzentration gemessen, und kleinere Zahlen bedeuten daher höhere Wirksamkeiten. Im letzten Falle wird die Wirkungsstärke bestimmt, wobei die höchste Wirksamkeit mit 4 bezeichnet wird.

#### Untersuchung nach dem Verfahren des Beispiels 7

Nr.	Fungicides Mittel	Wirksame Mindestkonzentration ug/ml, gegen	
		A. niger	P. Species
1	2-(4'-Thiazolyl)-5-fluorbenzimidazol .....	3,1 bis 6,3	<3,1
2	2-(4'-Thiazolyl)-5-brombenzimidazol .....	12,5 bis 2,5	3,1 bis 6,3
3	2-(2'-Furyl)-5-fluorbenzimidazol .....	50 bis 100	6,3 bis 12,5
4	2-(2'-Furyl)-benzimidazol .....	50 bis 100	<3,1
5	2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol .....	<3,1	<3,1

## Untersuchung nach dem Verfahren des Beispiels 14

Nr.	Fungicides Mittel	Wirkungsstärke bei 100 µg/ml gegen	
		A. niger	P. Species
6	1-Benzyl-2-(2'-thienyl)-benzimidazol	0	1
7	2-(3',5'-Dichlor-2'-furyl)-benzimidazol	1	0
8	2-Aethyl-5-methylbenzimidazol	1	1
9	2-(4'-Thiazolyl)-5,6-difluorbenzimidazol	4	4
10	2-(2'-Thiazolyl)-benzimidazol	4	4
11	2-(4'-Chlor-2'-furyl)-benzimidazol	1	4
12	2-(2'-Thienyl)-benzimidazol	3	3
13	2-(2'-Thienyl)-5,6-dimethylbenzimidazol	4	3
14	2-(1'-Methyl-2'-pyrryl)-benzimidazol	0	1
15	2-Äthyl-5,6-dimethylbenzimidazol	0	0
16	2-Butyl-5-methylbenzimidazol	0	0
17	2-Methyl-5-chlorbenzimidazol	0	0
18	2-Propyl-5-methylbenzimidazol	0	0
19	2-Äthylbenzimidazol	0	0
20	2-Methylbenzimidazol	0	0
21	2-(4',5'-Dichlor-2-furyl)-benzimidazol	0	0
22	2-(3',4'-Dichlor-2-furyl)-benzimidazol	0	0

Aus »Arzneimittelforschung«, 9 (1959), S. 489 bis 25 494, ist 1-(p-Chlorbenzyl)-2-methylbenzimidazol bekannt. Die beiden dieser Verbindung am nächsten verwandten, nicht erfundungsgemäßen Verbindungen sind 1-Benzyl-2-thienylbenzimidazol (Nr. 6 in der obigen Tabelle) und 2-Methylbenzimidazol (Nr. 20 in der obigen Tabelle). Keine der beiden Verbindungen besitzt nennenswerte fungicide Wirksamkeit. Die aus der deutschen Auslegeschrift 1 117 000 bekannten Verbindungen sind ebenfalls bedeutend weniger aktiv als die erfundungsgemäß verwendeten Verbindungen. Dies zeigt ein Vergleich von 2-(2'-Thienyl)-benzimidazol (Nr. 12) mit dem erfundungsgemäß verwendeten 2-(2'-Thiazolyl)-benzimidazol (Nr. 10), ein Vergleich von 2-(2'-Furyl)-benzimidazol (Nr. 4) mit dem erfundungsgemäß verwendeten 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol (Nr. 5) und ein Vergleich von 2-(2'-Furyl)-5-fluorbenzimidazol (Nr. 3) mit dem erfundungsgemäß verwendeten 2-(4'-Thiazolyl)-5-fluorbenzimidazol (Nr. 1).

## Beispiel 1

Brot wird nach einer Arbeitsweise wie folgt hergestellt:

Wasser .....	1800 g*
Mehl .....	300 g
Saccharose .....	23 g
Hefenahrung .....	15 g
Trockenmilch, nicht fett .....	45 g
Hefe .....	98 g
Salz .....	60 g

\* 200 ml Wasser werden zur Suspendierung der Hefe getrennt gemischt. 100 ml Wasser werden zum Auflösen des Salzes getrennt verwendet.

Wasser wird mit allen Trockenbestandteilen mit Ausnahme des Salzes und der Hefe vermischt. Eine Suspension der Hefe wird zugegeben, und das Gemisch wird bei 27 bis 29°C unter konstantem Rühren fermentiert. Salzlösung (38%ig) wird nach 15 bis 20 Minuten zugegeben, und das Rühren wird vermindert.

Man läßt die Fermentation 90 bis 120 Minuten fort schreiten. Das Gemisch wird in drei gleiche Teile geteilt.

Der Teig wird dann wie folgt zubereitet: 900 g Mehl und 30 g Zucker werden vermischt. 3,1 g Natriumpropionat werden in 20 ml Wasser und 2,5 ml einer Teigkonditionierlösung gelöst und zu einem Teil des Gemisches zugegeben. In entsprechender Weise wird ein zweiter Teil mit 0,3 g 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol versetzt. Zu dem Mehl-Zucker-Gemisch wird ein Teil der drei Gemische zugegeben, und 20 ml Wasser werden zum Spülen des Behälters des Gemisches verwendet. Jeder verbleibende Teil des Gemisches wird in entsprechender Weise zu einem identischen Mehlgemisch zugegeben. Die drei Teige werden bei geringer Geschwindigkeit 15 Sekunden 35 gemischt. 40 g Backfett, das durch Erwärmung auf 43°C geschmolzen ist, wird zu jedem Teig zugegeben, und das Mischen wird 45 Sekunden fortgesetzt. Das Mischen wird bei einer etwas höheren Geschwindigkeit 40 3,5 Minuten fortgesetzt. Jeder Teil des Teiges wird dann 30 bis 40 Minuten bei 27°C und 75% relater Feuchtigkeit aufgehen gelassen, in drei Teile geteilt, von denen jeder geformt, 35 Minuten bei 38°C und 45 80 bis 85% relater Feuchtigkeit stehengelassen und bei 224 bis 229°C 30 bis 40 Minuten gebacken wird. Die aus jeder Behandlung erhaltenen drei Laibe werden wie folgt weiterbehandelt:

1. Ein Laib dient als Kontrolle.
2. Ein Laib wird mit einer wäßrigen Suspension von Sporen von *Aspergillus niger* bespritzt.
3. Ein Laib wird mit einer wäßrigen Suspension von Sporen von *Penicilliumspecies* bespritzt.

Die Laibe werden in eine geeignete feuchtigkeitsdichte, staubdichte Verpackung eingewickelt, in eine Atmosphäre von 30°C gebracht und in Abständen auf Schimmelwachstum geprüft. Die Menge des auftretenden Wachstums wird wie folgt bewertet:

- = kein Wachstum sichtbar,
- + = schwaches Schimmelwachstum,
- +++++ = überaus starkes Schimmelwachstum.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle gezeigt.

Tabelle I

Zeit (Tage)	Kontrolle			Natriumpropionat			2-(3'-Thiazolyl)-benzimidazol		
	ohne	Penicillium	A. niger	ohne	Penicillium	A. niger	ohne	Penicillium	A. niger
4	—	—	+	—	—	—	—	—	—
5	—	++	++	—	—	—	—	—	—
6	—	++++	++++	—	—	—	—	—	—
7	—	+++++	+++++	—	+	+	—	—	—
11	D*	D	D	D	++++	+++++	D	—	—**

\* ) Weggeworfen.

\*\*) Nur einige wenige Stellen an Luftblasen in der Kruste; keine Neigung zum Ausbreiten.

Entsprechende Prüfungen werden unter Verwendung von Penicillium chrysogenum, P. notatum, P. citrinum, P. digitatum, P. roqueforti, P. expansum, P. italicum, P. martensii, Aspergillus versicolor und A. sydowi durchgeführt, und in jedem Falle ist das Benzimidazol zumindest sechzigmal wirksamer bei der Inhibition des Wachstums als Natriumpropionat auf der Basis von Gewicht zu Gewicht.

Bei einem weiteren Versuch unter Anwendung der Arbeitsweise von Beispiel 1 werden 0,0075 Gewichtsprozent 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol (bezogen auf Mehl) und 0,25 Gewichtsprozent Natriumpropionat (bezogen auf Mehl) verwendet. Die Ergebnisse sind in Tabelle II gezeigt.

Tabelle II

Zeit (Tage)	Kontrolle			2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol			Natriumpropionat		
	ohne	Penicillium	A. niger	ohne	Penicillium	A. niger	ohne	Penicillium	A. niger
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	+	+++	—	—	—	—	—	—
4	—	+++	++++	—	—	—	—	—	+++
5	+	++++	+++++	—	—	+	—	—	++++
6	+	+++++	+++++	—	—	+	—	—	+++++
7	++	+++++	+++++	—	—	++*	+	—	++++++

\*) Kein Wachstum auf der Krume; wenig Neigung zur Ausbreitung.

Wird 2-(2'-Thiazolyl)-benzimidazol an Stelle des 45 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazols verwendet, so werden praktisch identische Ergebnisse, wie sie in Tabelle II gezeigt sind, erhalten.

### Beispiel 3

In einen reinen sterilen Kolben werden 5 mg 50 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol und 0,3 mg Dimethylformamid als Lösungsmittel eingebracht. Sabouraud's Dextroseagar (50 mg, pH 5,6) werden dann bei etwa 50°C in den Kolben gegossen, und der Inhalt wird zur gleichförmigen Verteilung des Benzimidazols gerührt bzw. geschüttelt. Das Gemisch wird dann in Petrischalen gegossen und verfestigt sich beim Abkühlen. Eine wässrige Suspension von Sporen von Trichophyton mentagrophytes, der Fungus, der Athletenfuß hervorruft, wird auf das Medium in der 60 Petrischale aufgebracht. Nach 3tägiger Lagerung bei Zimmertemperatur wird vollständige Inhibition des Fungus festgestellt.

### Beispiel 4

In entsprechender Weise zu Beispiel 3 wird eine Lösung von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol in Dimethylformamid hergestellt. Ein Teil wird dann mit

Wasser so verdünnt, daß wechselnde Konzentrationen an Benzimidazol erhalten werden, so daß nach Zugabe zu 50 mg Agar Konzentrationen von 7,8 bis 250 µg/ml erhalten werden. Anschließend wird der Agar in Petrischalen gegossen und verfestigt sich. Dann wird er mit Sporen eines Fungus der in der nachfolgenden Tabelle III gezeigten Art beimpft. Die Konzentration, bei welcher fungicide Wirkung auftritt, wird festgestellt.

Tabelle III

Antifungus-Wirkung von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol

Kultur	Fungicide Konzentration*)
Cryptococcus neoformans .....	7,8 bis 15,6
Hormodendrum pedrosoi .....	31,2 bis 62,5
Microsporum audouini .....	<7,8
Microsporum gypseum .....	<7,8
Trichophyton mentagrophytes ..	<7,8
Trichophyton gypseum .....	125 bis 250
Trichophyton rubrum .....	15,6 bis 31,2

\*) Konzentration in µg/ml; Inkubation bei 37°C für 8 Tage.

## 11

## Beispiel 5

Ein Cremepräparat zur örtlichen Desinfektion wird nach der folgenden Rezeptur hergestellt:

Cetylalkohol .....	9,2 g	5
Stearylalkohol .....	9,2 g	
Natriumlaurylsulfat .....	1,5 g	
Weißes Petrolatum .....	30,0 ml	
Propylenglykol .....	10,0 ml	10
Destilliertes Wasser .....	ad 100,0 g	
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol .....	11,1 g	

Die Verbindungen gemäß der Erfindung sind für 15 örtlich anwendbare Präparate in Konzentrationen von etwa 0,01 bis etwa 30%, vorzugsweise etwa 0,5 bis 15%, brauchbar.

## Beispiel 6

Baumwollstreifen werden mit Alkohollösungen von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol wechselnder Konzentrationen imprägniert. Die Gewebe werden an der Luft getrocknet und mit einem Gemisch von Organismen, das *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium chrysogenum* und *Chestomium globosum*, enthält, die in mit 1% Weinsäure auf pH 5,5 angesäuertem Gehirn-Herz-Infusionslösung suspendiert sind, beimpft. Das Gewebe wird dann bei Zimmertemperatur 25 getrocknet, einzeln in sterile Petrischalen eingebracht und bei Zimmertemperatur in einer Atmosphäre mit

20

30

100% Feuchtigkeit inkubiert. Nach 10 Tagen werden folgende Ergebnisse festgestellt.

Konzentration von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol (Teile je Million)	Schimmelwachstum	
	positiv	negativ
0	positiv	
6,3	positiv (ein Fleck)	
12,5	negativ	
25	negativ	
50	negativ	
100	negativ	

## Beispiel 7

In einen von elf sterilen Kolben werden 25 mg von einer der unten angeführten elf Verbindungen eingebracht. In jeden der anderen zehn Kolben werden in entsprechender Weise die zehn verbleibenden Verbindungen eingebracht. Eine kleine Menge Dimethylformamid wird als Lösungsmittel zugegeben. Die Lösungen werden dann mit Wasser so verdünnt, daß eine solche Konzentration an Wirksubstanz erhalten wird, daß nach Zugabe zu 50 ml Kartoffel-Dextrose-Agar (pH 5,6) Konzentrationen von 3,1 bis 250 µg/ml erzielt werden. Der Agar wird dann in Petrischalen eingegossen und verfestigen gelassen. Dann beimpft man mit Spuren von *Aspergillus niger* und *Penicillium-Species* und stellt nach 3-tägiger Inkubation bei Zimmertemperatur die Konzentration fest, bei der fungicide Wirkung auftritt.

## Wirksame Konzentrationen bei der Kontrolle von Fungus-Wachstum

Antifungusmittel	Wirksame Konzentration*) gegen	
	A. niger	P. Species
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol .....	<3,1	<3,1
2-[3'-(1',2',5'-Thiadiazolyl)]-benzimidazol .....	25 bis 50	3,1 bis 6,3
2-(2'-Thiazolyl)-benzimidazol .....	50 bis 100	6,3 bis 12,5
2-(4'-Thiazolyl)-5-methoxy-benzimidazol .....	50 bis 100	25 bis 50
1-Acetyl-2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol .....	<3,1	<3,1
2-(4'-Thiazolyl)-5,6-difluor-benzimidazol .....	6,3 bis 12,5	<3,1
2-(4'-Thiazolyl)-5-fluor-benzimidazol .....	3,1 bis 6,3	<3,1
2-(4'-Thiazolyl)-5-(4'-fluorophenyl)-benzimidazol-hydrochlorid .....	12,5 bis 25	12,5 bis 25
2-(4'-Thiazolyl)-5-brom-benzimidazol .....	12,5 bis 25	3,1 bis 6,3
2-(4'-Thiazolyl)-5-phenyl-benzimidazol .....	25 bis 50	50 bis 100
2-(4'-Thiazolyl)-5-(2'-fluorophenyl)-benzimidazol-hydrochlorid .....	50 bis 100	50 bis 100

\*) Bei niedriger Konzentration Wachstum festgestellt, jedoch nicht bei der hohen Konzentration.

## Beispiel 8

2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol wird in mit Rhizoctonia solani infizierte Erde so pipettiert, daß eine Konzentration von 110 Teilen je Million in der Erde erhalten wird. Die mit Fungus infizierte Erde und eine von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol freie Kontrolle werden getrennt, in Papierbehälter eingebracht, Baumwolle wird darin gepflanzt, und die Pflanze wird 60 3 Wochen anschließend auf Krankheitssymptome geprüft. Es zeigt sich eine 50%ige Kontrolle von Rhizoctonia solani.

60

65

## Beispiel 9

Die Arbeitsweise von Beispiel 8 wird unter Verwendung von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol und mit Fusarium solani infizierter Erde unter Verwendung von Bohnenpflanzen wiederholt. Bei 27 Teilen je Million wird eine 100%ige Kontrolle festgestellt.

## Beispiel 10

Die Arbeitsweise von Beispiel 8 unter Verwendung von mit Pythium ultimum infizierter Erde liefert

Ergebnisse, die zeigen, daß 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol bei 50 Teilen je Million die Fungusaktivität teilweise unter Kontrolle hält.

## Beispiel 11

Gefleckte Feldbohnen werden mit verschiedenen Konzentrationen von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol in Wasser gründlich besprüht. Nach Trocknen werden die Pflanzen mit Sporen von Rost und echtem Mehltau (powdery mildew) infiziert. Die zum Zeitpunkt, zu dem die Krankheitssymptome auf unbehandelten Bohnen deutlich sind, festgestellten Ergebnisse sind die folgenden:

15

Fungus	Konzentration von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol	% Wachstumsinhibition
Rost .....	1000 Teile je Million	90
Rost .....	500 Teile je Million	85
Rost .....	100 Teile je Million	80
Mehltau .....	1000 Teile je Million	100
Mehltau .....	500 Teile je Million	100
Mehltau .....	100 Teile je Million	90

## Beispiel 12

Die im Beispiel 11 angewendete Arbeitsweise wird an mit Frühtrockenfäule infizierten Tomaten und Sellerie wiederholt. Die Ergebnisse sind die folgenden:

Frucht	Fungus	Konzentration von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol	% Wachstumsinhibition
Tomate	Alternaria solani	1000 Teile je Million	100
Tomate	Alternaria solani	500 Teile je Million	90
Tomate	Alternaria solani	100 Teile je Million	85
Sellerie	Early Blight	1000 Teile je Million	100
Sellerie	Early Blight	500 Teile je Million	100
Sellerie	Early Blight	100 Teile je Million	90

## Beispiel 13

2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol wird in destilliertem Wasser auf verschiedene Konzentrationen verdünnt und in Reagensgläser gegossen. Eine gefleckte Feldbohnenpflanze wird in jedes Reagenzglas mit einem Wattebausch eingebracht, der den Träger für den Stengel ergibt und ein Verdampfen verhindert. 4 bis 8 Stunden später werden die Pflanzen mit Sporen von Rost und echtem Mehltau infiziert. Der Rost wird bei einer Menge von 25 Teilen je Million, bezogen auf Träger, und der echte Mehltau bei 1 Teil je Million vollständig unter Kontrolle gehalten.

## Beispiel 14

Die im nachfolgenden aufgezählten Verbindungen werden in Dimethylformamid gelöst, und Kartoffel-Dextrose-Agar wird in einer Menge zugegeben, daß eine Konzentration des Wirkstoffs von 100 µg/ml erhalten wird. Das Medium wird mit Schimmel von Aspergillus niger und Penicillium-Species durch Bestreichen mittels einer Drahtöse beimpft. Die Verbindungen, die die Schimmel bei 100 µg/ml inhibieren, sind nachfolgend zusammengestellt. Der Zahlenwert 4 stellt eine hohe Wirksamkeit der Verbindung dar, während 3, 2 und 1 entsprechend geringere Wirkungsgrade der Verbindung anzeigen.

15

	Verbindung	A. niger	P. Species
20	2-(4'-Thiazolyl)-5-(4'-fluorophenyl)-benzimidazol-hydrochlorid ....	4	4
21	2-(4'-Thiazolyl)-5-fluor-benzimidazol .....	4	4
22	2-(4'-Thiazolyl)-5-brom-benzimidazol .....	4	4
23	2-(4'-Thiazolyl)-5-phenyl-benzimidazol .....	4	4
24	2-(4'-Thiazolyl)-5-(2'-fluorophenyl)-benzimidazol-hydrochlorid ....	4	4
25	2-(2'-Thiazolyl)-benzimidazol ....	4	4
26	1-Benzoyl-2-(4'-thiazolyl)-benzimidazol .....	4	4
27	2-(4'-Thiazolyl)-5-difluor-benzimidazol .....	4	4
28	1-Acetyl-2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol .....	4	4
29	2-(4'-Thiazolyl)-5-(4'-methoxy-phenyl)-benzimidazol-hydrochlorid .....	1	1
30	2-(4'-Thiazolyl)-5-phenoxy-6-phenylbenzimidazol-hydrochlorid .....	2	1
31	2-[3'-(1',2',5'-thiadiazolyl)]-benzimidazol .....	4	4
32	2-(4'-Thiazolyl)-5-methoxy-benzimidazol .....	4	4
33	2-(2'-Methyl-4'-thiazolyl)-benzimidazol .....	3	2
34	2-[4'-(1',2',3'-Thiadiazolyl)]-benzimidazol .....	—	2

## Beispiel 15

Amerikanischer Schmelzkäse, der kein Konservierungsmittel enthält, wird aufgeschnitten, zurechtgemacht und mit einer Species von Penicillium, das aus schimmeligem Cheddarkäse erhalten ist, beimpft. Kleine gleichförmige Haufen von geschnittenem Käse mit einem Gewicht von jeweils etwa 96 g werden mit einem feinen Nebel von Schimmelsporen beimpft. Die Proben werden so dicht wie möglich mit einer Zellophanschichtenfolie eingewickelt und bei einem Minimum eingeschlossener Luft heißgesiegelt. Das Einwickelmateriale wird vor dem Einwickeln mit 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol oder Sorbinsäure beschichtet oder unbeschichtet gelassen. Der Sorbinsäurespiegel schwankt von 0,166 bis 0,465 mg/cm<sup>2</sup>. Die je Quadrat-

zentimeter der Verpackungsfolie verwendete Menge an 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol schwankt von 0,00465 bis 0,112 mg (im Mittel 0,038 mg). Die eingewickelten Proben werden dicht aneinander in genormten 2,27-kg-Käsekartons gepackt und bei 7 bis 10°C gekühlt. In wöchentlichen Abständen wird das Schimmelwachstum geprüft.

Alle sechs Proben in unbehandelten Verpackungen zeigen sichtbares Schimmelwachstum nach 5wöchiger Lagerung. Eine der sechs mit Sorbinsäure behandelten Proben (0,166 mg/cm<sup>2</sup>) zeigt Schimmelwachstum an einer Stelle schlechten Kontakts zwischen dem Käse und der Verpackung. Keine der achtzehn mit 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol behandelten Proben enthält sichtbares Schimmelwachstum bei der Prüfung nach 5 Wochen. Nach 8wöchiger Lagerung zeigt eine der mit 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol behandelten Proben (0,022 mg/cm<sup>2</sup>) Schimmelwachstum an einer Stelle schlechten Kontakts mit der Verpackung. Nach 20 Wochen weist eine zweite mit Sorbinsäure behandelte Probe (0,23 mg/cm<sup>2</sup>) sichtbares Penicillium-Wachstum auf.

Nach einer Lagerung von 22 Wochen sind insgesamt zwei der sechs mit Sorbinsäure behandelten Proben und eine der achtzehn mit 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol behandelten Proben durch den Penicillium-Schimmel verdorben.

#### Beispiel 16

Proben von Schmelzkäse werden mit 40 Teilen je Million 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol, 500 Teilen je Million Kaliumsorbit und 1500 Teilen je Million Calciumpropionat behandelt. Die Käseproben werden in sterilen Petrischalen ausgebreitet und mit Hilfe einer Öse aus Suspensionen der Schimmel Aspergillus niger, Penicillium roqueforti und Penicillium notatum beimpft. Alle Proben werden 4 Tage bei 28°C gelagert. Die unbehandelten Proben zeigen reichliches Wachstum von allen drei Schimmeln nach 4 Tagen, während die mit 40 Teilen je Million 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol behandelten Proben kein Schimmelwachstum zeigen. Die 1500 Teile je Million Calciumpropionat lassen eine Spur von Wachstum von A. niger zu, während 500 Teile je Million Kaliumsorbit wenig inhibierende Wirkung auf A. niger zeigen.

#### Beispiel 17

2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-hydrochlorid wird zu steriles Wasser zur Herstellung einer wäßrigen Lösung hiervon zugegeben. Die Lösung wird zu Sabourauds Dextrose-Agar so zugegeben, daß eine Benzimidazolkonzentration im Bereich von 0,1 bis 100 µg/ml erzielt wird. Etwa 20 µg Penicillin und 40 µg Streptomycin werden zu dem Agar zur Kontrolle einer möglichen bakteriellen Verunreinigung zugegeben.

Das Impfmaterial wird durch Züchten der verschiedenen Kulturen in flüssigem Dextrosemedium nach Sabouraud bei 24°C hergestellt. Die Kulturen werden von Hand verrieben, um eine feine Suspension zu erhalten.

Die Fungussuspension wird auf die Oberfläche des Agars mit einer genormten Drahtöse aufgestrichen. Die Platten werden bei 24°C inkubiert. Der niedrigste Spiegel der Verbindung der, das Wachstum verhindert, wird als minimale Hemmkonzentration vermerkt.

#### Fungistatische Wirksamkeit von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol gegen saprophytische Fungi

	Kultur	Minimale Hemmkonzentration (µg/ml)
5	Alternaria solani .....	4
	Aspergillus flavus .....	4
10	Aspergillus fumigatus .....	8
	Aspergillus luchensis .....	20
	Aspergillus nidulans .....	8
	Aspergillus niger .....	40
	Aspergillus glaucus .....	1
	Aspergillus terreus .....	4
	Chaetomium clivaceum .....	20
	Monilia nigra .....	10
	Penicillium oxalicum .....	1
20	Penicillium spinulosum .....	1
	Penicillium funiculosum .....	<1

#### Beispiel 18

Eine wäßrige Lösung von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol und Impfmaterialien der unten angeführten Fungi werden in einer Weise hergestellt, die der im Beispiel 17 beschriebenen entspricht. Die fungicide Wirkung der Benzimidazole wird durch die Reagenzglas-Verdünnungsmethode unter Verwendung von Sabourauds Dextrosemedium, das 10% durch Wärme inaktiviertes Pferdeserum enthält, bewertet. Die Reagenzgläser werden beimpft und bei 37°C inkubiert. Das Fungus-Wachstum wird in Abständen über eine Zeitspanne von 20 Tagen festgestellt. Die minimale Hemmkonzentration ist der niedrigste Substanzspiegel, der ein Wachstum verhindert. Die folgende Tabelle zeigt die erhaltenen Ergebnisse:

#### Fungicide Wirksamkeit von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol gegen pathogene Fungi

	Kultur	Minimale Hemmkonzentration (µg/ml)
	Cryptococcus neoformans .....	20 bis 30
	Geotrichum sp. .....	15
	Hormodendrum pedrosoi .....	10 bis 15
30	Microsporum audouini .....	7,8
	Microsporum gypseum .....	0,5 bis 1,0
	Trichophyton mentagrophytes ..	1 bis 2
	Trichophyton gypseum .....	6 bis 8
	Trichophyton rubrum .....	1

#### Beispiel 19

In 5 ml Dimethylformamid wird eine solche Menge 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol gelöst, daß nach Zugabe von flüssigem Medium nach Sabouraud und weiteren Verdünnungen mit dem flüssigen Substrat 2,5 bis 100 Teile je Million Substanz in dem Medium erhalten werden. Das Medium wird sterilisiert (121°C, 15 Minuten, 1,05 atü) und dann mit dem in steriles Wasser suspendierten Testorganismus beimpft. Die folgenden Ergebnisse zeigen diejenige Menge der Verbindung in Teilen je Million, die zur vollständigen Inhibition des Fungus-Wachstums erforderlich ist.

## Antifunguswirksamkeit

Fungus	Minimale Hemmkonzentration (Teile in Million)
Aspergillus-Species (erhalten aus schimmeligem Tabak) .....	2,5
Penicillium-Species (erhalten aus schimmeligem Tabak) .....	2,5
Lenzites trabea .....	5
Pullalaria pullulans .....	5
Aspergillus oryzae .....	5
Rhizopus-Species .....	100
Penicillium cyclopium .....	2,5
Monilia sitophila .....	100
Neurospora sitophila .....	5
Phoma terrestris .....	5

## Beispiel 20

Die Arbeitsweise von Beispiel 19 wird mit der Ausnahme angewendet, daß an Stelle des flüssigen Mediums nach Sabouraud Kartoffel-Dextrose-Medium verwendet wird. Ceratocystis pilifera wird bei 100 Teilen je Million, dem niedrigsten geprüften Spiegel, inhibiert.

25

## Beispiel 21

Die fungicide Wirkung von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol wird durch Weiterzüchten von 0,05 bis 0,1 ml des behandelten Agars aus jedem der in der Testmethode von Beispiel 18 verwendeten Reagensgläser bewertet. Nebenkulturen werden auf Dextrose-Schrägar agar nach Sabouraud durchgeführt. Das Vorhandensein oder das Fehlen von Wachstum wird nach 8- bis 21tägiger Inkubation bei 37°C festgestellt. Es werden die folgenden Ergebnisse erhalten:

30

## Fungicide Wirkung von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol gegen pathogene Fungi

40

Kultur	Minimale Hemmkonzentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
Trichophyton gypseum .....	8
Trichophyton mentagrophytes .....	2
Trichophyton rubrum .....	1
Microsporum gypseum .....	1

45

## Beispiel 22

Eine Suspension von Sporen von Trichophyton mentagrophytes in Wasser wird innig mit Sabourauds Dextrose-Agar vermischt, und das Medium wird in Petrischalen gegossen und gelieren gelassen. Man führt eine intravenöse Infusion bei zwei Hunden bei einer Dosis von 40 mg 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol je Kilogramm durch und entnimmt 36 Minuten danach Serum. Das von dem Serum ermöglichte Fungus-Wachstum wird mit dem Wachstum verglichen, das nach Agarbeimpfung mit einer Lösung der Verbindung bekannter Konzentrationen auftritt. Eine Konzentration der Verbindung bis zu 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$  im Serum wird festgestellt. Zehnfache Verdünnung dieses Serums verhindert das Wachstum von T. mentagrophytes auf Sabourauds Dextrose-Medium.

55

Zwei Hunde werden oral mit einer Dosis von 200 mg 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol je Kilogramm behandelt,

und Serum wird 90 Minuten danach entnommen. Dieses Serum ist zur Inhibierung des Wachstums von T. mentagrophytes auf Sabourauds Dextrose-Medium wirksam.

## 18

## Beispiel 23

Die Antifunguswirksamkeit von 2-(4'-Thiazolyl)-5(6)-difluorbenzimidazol und von Metallkomplexen von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol gegen Trichophyton mentagrophytes wird nach der Agar-Aufstricharbeitsweise gemäß Beispiel 17 geprüft. Die Verbindungen werden in steriles destilliertem Wasser suspendiert und zu Sabourauds Dextrose-Agar so zugegeben, daß Endkonzentrationen von 0, 0,1, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 25, 50 und 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  erhalten werden. Die Oberfläche des Agars wird mit einer Suspension des Testorganismus bestrichen, und die Platten werden bei Zimmertemperatur 14 Tage inkubiert. Die minimale Hemmkonzentration wird als die niedrigste Konzentration an Substanz, die ein sichtbares Wachstum verhindert, festgestellt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle angegeben:

Verbindung	Minimale Hemmkonzentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) [14 Tage Inkubation]
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-Kupferkomplex .....	8,0
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-Bleikomplex .....	4,0
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-Kupferkomplex .....	2,0
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-Zinkkomplex .....	2,0
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-Eisenkomplex .....	2,0
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-Kobaltkomplex .....	2,0
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-Quecksilberkomplex .....	4,0
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-Mangankomplex .....	2,0
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-Nickelkomplex .....	2,0
2-(4'-Thiazolyl)-5,6-difluorbenzimidazol .....	6,0
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-hydrochlorid .....	1,0

Die obigen Komplexe werden durch Vermischen einer wässrigen Lösung eines Metallsalzes mit 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol in Methanol hergestellt.

## Beispiel 24

Die Methode von Beispiel 23 wird zur Prüfung der Antifungus-Wirksamkeit von 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol-hydrochlorid gegenüber Clavaceps purpureum angewendet. Die Verbindung inhibiert das Wachstum dieses Fungus bei 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

65

Die nachfolgend aufgeführten Verbindungen werden auf ihre Wirksamkeit in vitro gegen die Dermatophytes, Trichophyton mentagrophytes und Trichophyton rubrum geprüft. Die Wirksamkeit der Ver-

bindungen wird nach der im Beispiel 4 angewendeten Arbeitsweise bewertet. Die Verbindungen werden in Suspensionen oder Lösungen in 1% Emulphor hergestellt und zu Sabourauds Dextrose-Agar zugegeben, der 40 g Streptomycin je Milliliter, 20 µg Penicillin je Milliliter und 10% inaktiviertes Pferdeserum enthält. Konzentrationen an den Verbindungen von 0,1 bis 100 µg/ml werden angewendet. Die Platten werden bei Zimmertemperatur inkubiert, und das Wachstum wird nach 10tägiger Inkubation festgestellt. Die minimale Hemmkonzentration wird als der niedrigste Spiegel an Verbindung, der das Wachstum hemmt, festgestellt.

## Antifunguswirksamkeit

	Minimale Hemm konzentration (µg/ml)		20
	T. rubrum	T. menta- grophytes	
1-Benzoyl-2-(4'-thiazolyl)-benzimidazol .....	2	2	
2-(2'-Thiazolyl)-benzimidazol .....	8	8	
2-(4'-Thiazolyl)-5-fluor-benzimidazol .....	4	4	25
2-(4'-Thiazolyl)-5-(4'-fluor-phenyl)-benzimidazol-hydrochlorid .....	100	50	
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol .....	1	1	30

## Beispiel 26

Sechs Kuchen von Hundefutterfleisch werden getrennt in drei Gruppen von je zwei Kuchen, wobei die ersten beiden so hergestellt werden, daß sie 50 Teile je Million an 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol enthalten, das zweite Paar so bereitet wird, daß es 2000 Teile je Million Kaliumsorbit enthält, und das dritte Paar unbehandelt bleibt. Alle sechs Fleischkuchen werden dann in einen Brutofen, der früher mit fungusinfiziertem Hundefutterfleisch ausgesetzt war, eingebracht und bei 85% relativer Feuchtigkeit und 32° gehalten. Nach einer Inkubation von 2 Wochen sind beide un behandelten Proben durch Schimmelwachstum verdorben. 3½ Wochen nach dem anfänglichen Einbringen in den Brutschrank ist eine der zwei mit Kaliumsorbit behandelten Kuchen verdorben, während die zwei Fleischkuchen mit einem Gehalt von 50 Teilen je Million an 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol unverdorben geblieben sind. 50

## Beispiel 27

Fünf Orangen werden eingeritzt und in Äthanol eingetaucht, das 1% 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol enthält. Fünf andere Orangen werden in entsprechender Weise eingeritzt und mit Äthanol ohne Zugabe der Verbindung behandelt. Alle zehn Orangen werden mit einem feinen Nebel einer Schimmelporensuspension, die Penicillium digitatum und Penicillium italicum enthält, besprüht. Die beimpften Orangen werden bei Zimmertemperatur in Kunststoffbehältern, die freien Luftdurchtritt gestatten, gelagert. Nach 19 Tagen sind alle in Äthanol ohne das Antifungusmittel eingetauchten Orangen durch das Penicillium verdorben, während nach der gleichen Zeitspanne keine in das Benzimidazol enthaltendes Äthanol eingetauchte Orange Schimmelwachstum aufweist. 65

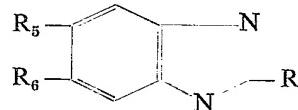
Bei einer zweiten Prüfung werden zwölf Orangen in drei Gruppen von je vier Orangen geteilt. Die Orangen werden alle eingeritzt, und eine Gruppe von vier Orangen wird in Wachs mit einem Gehalt von 5 250 Teilen je Million an 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol in Lösung oder Suspension eingetaucht. Eine zweite Gruppe von Orangen wird in Wachs ohne zugesetztes Antifungusmittel eingetaucht, und die dritte Gruppe bleibt unbehandelt. Alle zwölf Orangen werden mit einem feinen Nebel einer Suspension, die Penicillium digitatum und Penicillium italicum enthält, besprüht und bei Zimmertemperatur in Kunststoffbehältern, die freien Luftzutritt gestatten, gelagert. Die Ergebnisse dieser Prüfung sind in der folgenden Tabelle zusammen gestellt:

Behandlung	Zahl der durch Penicillium verdorbenen Orangen			
	10 Tage	13 Tage	20 Tage	23 Tage
Unbehandelt .....	1	2	3	4
Wachs allein .....	2	3	4	4
2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol in Wachs	0	0	0	0

Die Zulässigkeit der Verwendung der erfindungsgemäßen Mittel zur Konservierung von Lebensmitteln, die für den Verbrauch im Inland bestimmt sind, richtet sich nach den Lebensmittelgesetzen.

## Patentansprüche:

1. Mittel zur Bekämpfung von Fungus-Wachstum, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einem 2-R-Benzimidazol der Formel

 $R_1$ 

in der R einen Thiazolyl-, Isothiazolyl- oder Thiadiazolylrest,  $R_1$  ein Wasserstoffatom oder einen Acyl-, niedrig-Alkyl-, Alkenyl-, Aralkyl- oder Aralkenylrest und  $R_5$  und  $R_6$  Wasserstoff- oder Halogenatome oder niedrig-Alkyl-, Phenyl-, Halogenphenyl-, niedrig-Alkoxyphenyl-, Phenoxy- oder niedrig-Alkoxygruppen bedeuten, wobei, falls einer der Reste  $R_5$  und  $R_6$  einen anderen Rest als ein Halogenatom bedeutet, zumindest einer der Reste  $R_5$  und  $R_6$  Wasserstoff ist, oder Säureadditionssalzen hiervon.

2. Mittel nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch einen Gehalt an 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol.

3. Mittel nach Anspruch 2, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer Komplexverbindung von Kupfer, Blei, Zink, Eisen, Kobalt, Quecksilber, Mangan oder Nickel mit 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazol.

In Betracht gezogene Druckschriften:  
Deutsche Auslegeschrift Nr. 1 117 000;  
USA.-Patentschriften Nr. 3 017 415, 3 055 907;  
Arzneimittelforschung, 9 (1959), S. 489 bis 494.